NIPPON Genetics Co.,Ltd.

取扱説明書

ver.201411版 研究用

ミドリグリーン Direct

Cat.No.	概　要	包装単位
NE-MG05	Midori Green Direct DNA Stain 【トライアルキット】	50μL
NE-MG06	Midori Green Direct DNA Stain	1mL

ミドリグリーンDirectは、エチジウムブロマイド（EtBr）に替わる安全なDNA蛍光染色試薬です。

【特長】
- EtBrに比較してより安全なアガロース電気泳動用核酸染色用試薬です。
- EtBrと検出感度は、ほぼ同等です。
- DNAやRNAと結合し、緑色の蛍光を発します。
- 励起波長：490nm付近に強い1次ピーク、～290nmに2次ピークがあります。
- 蛍光波長：～530nmです。
- サンプルローディングDye入りなので、サンプルに混ぜるだけです。
  （ご注意：ゲルに混ぜる“先染め”、および電気泳動後の“後染め”にはご使用いただけません。）
- サンプルに混ぜるため、ゲルのバックグラウンドが低く、高いS/N比が得られます。

【保存期間】
- 必ず遮光保存してください！
- 室温で1年間保存できます。
- 4℃保存も可能です。

【安全性】
ミドリグリーンDirectは、非発癌性です。エームス試験の結果、EtBrよりも圧倒的に低い変異原性を示しました。
また、ラテックスグローブや細胞膜へ浸透性がないことが確認されました。

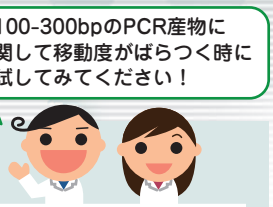
【電気泳動用色素について】
ミドリグリーンDirectには、電気泳動用色素としてBPB（ブロモフェノールブルー）が添加されております。
BPBの移動度の目安は、1%アガロースゲルで約500bp、2%アガロースゲルでは約150bpに相当します。
本試薬は、このBPBにより通常は青色を呈しておりますが、保管状況により黄色に変色する場合があります。
これは、バッファーの僅かなpHの変化（大気中の二酸化炭素などの影響による）でBPBが変色したものであり、本来の性能には全く影響がございませんので、そのまま通常どおりご使用いただけます。
（黄色に変色した場合でも、サンプルと混合すると元の青色に戻ります。）

【使用方法】
① アガロースゲル溶液を任意の方法で作製してください。（オートクレーブ、電子レンジ等を使用）
② ゲルをゲル作製用トレーに流し込んでください。（ゲル厚を0.5cm以下にすることが染色の成功につながります）
③ 一般的なローディングDyeを添加、混合する操作と同様に、ミドリグリーンDirectをサンプルおよびDNAマーカーとそれぞれ1：10（dye：sample）の比率で混合してください。ラダーマーカーに関しては、ラダーマーカー 5μLあたりミドリグリーンDirect 1μLを目安に添加してください。
④ 混合したサンプルをゲルの各ウェルにアプライし、電気泳動してください。
⑤ 泳動結果は、UVまたは青色LEDイルミネータで検出してください。
＊検出について
・青色LEDイルミネータのほうが、より高感度に検出可能です。
・UVイルミネータでは、SYBRGreen用フィルターを使用すると、より高感度に検出できます。

注）ミドリグリーンDirectの添加量が多過ぎる場合、検出したバンドが波打ったように見える場合があります。この場合、添加量を減らしてください。

【注意】
- 作製するゲル厚は、0.5cm以下にすることが染色の成功につながります。
- 一般的な試薬の取扱いと同様に、取扱いは十分ご注意ください。操作時には、グローブをご着用ください。使用後は、各施設の基準に従って廃棄してください。

技術資料 (Technical Data Sheet)



DNA を希釈するときのミドリグリーン Direct の使用方法

● 目的

Midori Green Directを一定量でサンプルと混合した場合、DNA量が少なくなってくると、移動度が遅くなる。この理由は、Midori Green Directがプラスチャージを持ち、電気泳動時にDNAの移動方向とは逆方向に進もうとするため、DNAとの結合の度合いにより移動度の影響を受けやすくなるためである。そこで、Midori Green Directを希釈することで、移動度が補正できるかを検討した。

● 評価方法

① アガロースゲルを任意の方法で作製する。
② 一般的な×5～×6のローディングDyeでMidori Green Directを3-4倍に希釈する。
（ここでは、KAPA DNA Express Ladderに付属のx6 Loading Dyeを使用）
③ 希釈したMidori Green Directをサンプルと1:10
（希釈したMidori Green Direct：サンプル）の比で混合する。
④ 混合したサンプルをゲルの各ウェルにアプライし、電気泳動する。
⑤ 泳動結果はUVまたは青色LEDイルミネータで検出する。

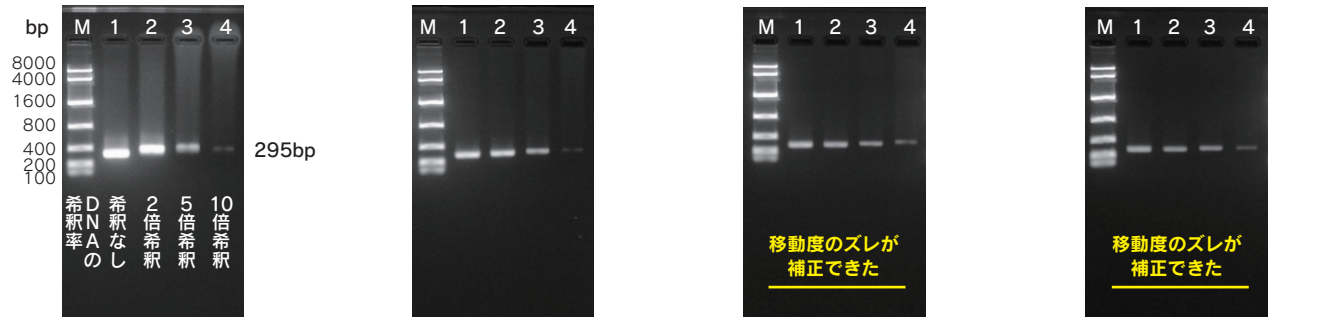
● 使用試薬

Midori Green Direct (MGD)
(Cat No. NE-MG06)

FastGene™アガロース
(Cat No. NE-AG02)

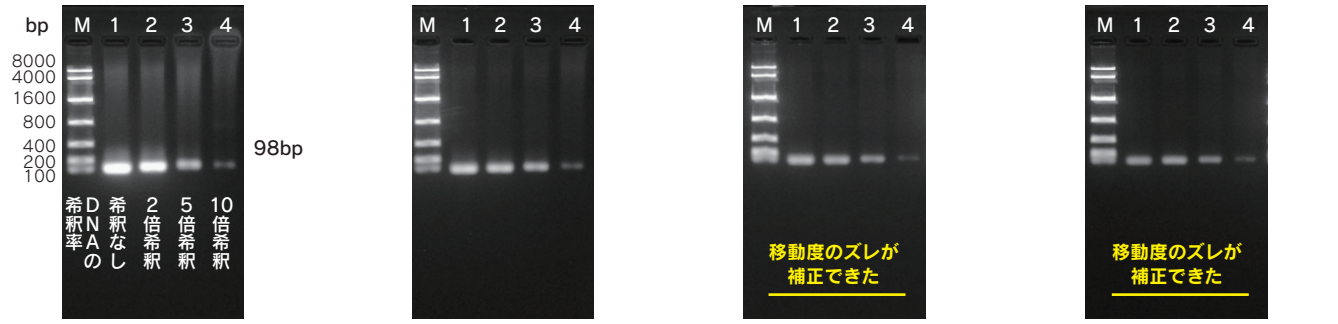
例1)　295bp　PCR産物

MGDを希釈せずに使用　MGDを2倍希釈で使用　MGDを3倍希釈で使用　MGDを4倍希釈で使用



例2)　98bp　PCR産物

MGDを希釈せずに使用　MGDを2倍希釈で使用　MGDを3倍希釈で使用　MGDを4倍希釈で使用



M：マーカー
1 ：希釈なし（DNA量 88.4ng）
2 ：PCR産物を2倍希釈（DNA量 44.2ng）
3 ：PCR産物を5倍希釈（DNA量 17.68ng）
4 ：PCR産物を10倍希釈（DNA量 8.84ng）MGDは×6 Dyeを用いて希釈

● 泳動条件

サンプル量 10μL/well
1.5%TAE アガロース
100V, 30min

● まとめ

・約10-50ng程度のDNA量のバンドを泳動する際には、MGDを3-4倍希釈することで移動度が補正できる。
・MGDは、約10ng程度のDNA量でもバンドが確認できる。

日本ジェネティクス株式会社 http://www.n-genetics.com

本　　社：〒112-0004 東京都文京区後楽1丁目4番14号 後楽森ビル18F　Tel. 03 (3813) 0961　Fax. 03 (3813) 0962
西日本営業所：〒604-8277 京都府京都市中京区西洞院通御池下ル565番地 ラフィーネ御池3F　Tel. 075 (257) 5421　Fax. 075 (257) 5422

2014年12月現在のものです。製品は改良のため予告なく変更する場合があります。10P1412